

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620071151974

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

水稻 *OsPDRH9N* 基因功能研究

Functional Analysis of *OsPDRH9N* in Rice

汪 卫

指导教师姓名: 陈 亮 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2010 年 6 月

论文答辩时间: 2010 年 8 月

学位授予日期:

答辩委员会主席: 田惠桥 教授

评 阅 人: _____

2010 年 8 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(陈亮)课题(组)的研究成果,获得(陈亮)课题(组)经费或实验室的资助,在(陈亮)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 汪卫

2010年 08月 11日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ☒ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：汪卫

2010年 08月 11日

目录

摘 要	1
Abstract	3
缩略词	5
1 前言	6
1.1 植物抗病基因研究进展	6
1.1.1 植物抗病性	6
1.1.2 植物抗病基因分类	7
1.1.3 抗病基因作用机制	11
1.1.4 抗病基因两种主要作用模型	12
1.1.5 植物抗病基因克隆的方法	13
1.2 植物抗病基因同源序列(resistance gene analog, GRA)研究进展	16
1.2.1 植物 RGA 与抗病基因的关系	16
1.2.2 植物抗病基因同源序列的应用	16
1.2.3 RGA 的应用前景	18
1.3 水稻细菌性条斑病概况	19
1.3.1 水稻细条病的侵入途径及发病症状	19
1.3.2 水稻细条病抗性遗传研究	20
1.3.3 水稻细菌性条斑病的抗性分子生物学研究	20
1.4 研究的目的是和意义	21
2 材料与方法	22
2.1 材料	22
2.1.1 植物材料	22
2.1.2 目的基因	22
2.1.3 质粒和菌株	22
2.1.4 主要化学试剂	22
2.1.5 主要化学仪器	23
2.1.6 培养基的配制	24
2.2 方法	24
2.2.1 水稻 <i>OsPDRH9N</i> 基因生物信息学分析	24
2.2.2 引物设计及合成	24
2.2.3 TOPO Cloning 反应构建入门载体	26
2.2.4 最终表达载体的构建	28
2.2.5 农杆菌介导的水稻遗传转化	30
2.2.6 细菌性条斑病菌株的培养与接种菌液配制	32
2.2.7 针刺法接种病菌	32
2.2.8 转基因水稻检测	32
3 结果与分析	35
3.1 <i>OsPDRH9N</i> 基因生物信息学分析	35
3.1.1 <i>OsPDRH9N</i> 基因在水稻染色体上的定位	35

3.1.2 <i>OsPDRH9N</i> 基因蛋白氨基酸序列与已克隆 R 蛋白的多重序列比对	36
3.2 表达载体的构建	37
3.2.1 RT-PCR 扩增获得目的基因片段	37
3.2.2 TOPO 反应获得含有目的片段的入门载体	37
3.2.3 LR 反应获得相应最终表达载体	40
3.3 水稻愈伤组织的遗传转化	45
3.4 转基因水稻检测	46
3.4.1 转基因植株的 PCR 检测	46
3.4.2 <i>OsPDRH9N</i> 基因表达谱分析	48
3.4.3 转基因植株的 <i>OsPDRH9N</i> 基因表达分析	49
3.5 水稻 <i>OsPDRH9N</i> 的亚细胞定位	49
3.6 <i>OsPDRH9N</i> 基因表达对其他相关抗性基因表达的影响	51
4 讨 论	53
4.1 植物中 RANi 表达载体的构建	53
4.2 <i>OsPDRH9N</i> 基因的表达方式	54
4.3 转基因植株的检测	55
4.4 亚细胞定位	56
5 小结与展望	57
参考文献	58
致谢	64

Content

Abstract (In Chinese).....	1
Abstract (In English)	3
Abbreviation	5
1 Preface	6
1. 1 Research progress of plant disease resistance (R) genes	6
1.1.1 Plant disease resistance	6
1.1.2 Classification of R-gene.....	7
1.1.3 Mechanism of R-gene.....	11
1.1.4 The two main function model of R-gene	12
1.1.5 R-gene cloning methods	13
1.2 Research progress of plant resistance gene anologue(RGA)	16
1.2.1 Relationship between RGA and R-gene	16
1.2.2 Application of RGA	16
1.2.3 Application prospect of RGA	18
1.3 Introduction of rice bacterial leaf streak(BLS).....	19
1.3.1 Infection approach and disease symptom of BLS	19
1.3.2 Study on the inheritance of resistance to BLS	20
1.3.3 Study on the Molecular Biology of resistance to BLS.....	20
1.4 Materials and methods	21
2 Materials and methods	22
2.1 Materials	22
2.1.1 Plant materials	22
2.1.2 Target gene	22
2.1.3 Plasmid and bacterium.....	22
2.1.4 Solution	22
2.1.5 Apparatus and equipments	23
2.1.6 Preparation of medium	24
2.2 Main methods	24
2.2.1 Bioinformatics analysis of <i>OsPDRH9N</i>	24
2.2.2 Primer design and synthesis	24
2.2.3 Construction of entry clone by TOPO Cloning reaction	26
2.2.4 Construction of destination expression vector	28
2.2.5 Agrobacterium-mediated transformation of rice	30
2.2.6 The Culture of <i>Xooc</i> and preparation of bacterial liquid for inoculating	32
2.2.7 Inoculation by needle punching.....	32
2.2.8 Detection of transgenic rice.....	32
3 Results and analysis	35
3.1 Bioinformatics analysis of <i>OsPDRH9N</i>	35
3.1.1 The positional information of <i>OsPDRH9N</i> on rice chromosome	35

3.1.2 Multiple sequence alignment of <i>OsPDRH9N</i> product	36
3.2 Construction of expression vectors	37
3.2.1 RT-PCR amplification of target gene fragment	37
3.2.2 The achievement of entry vector by TOPO cloning reaction	37
3.2.3 The achievement of destination expression vector by LR reaction.....	40
3.3 Agrobacterium-mediated transformation of rice callus.....	45
3.4 Analysis of transgenic rices.....	46
3.4.1 PCR analysis of transgenic rices.....	46
3.4.2 Analysis of <i>OsPDRH9N</i> Expression Profile	48
3.4.3 Expression analysis of <i>OsPDRH9N</i> in transgenic rices	49
3.5 Subcellular localization of <i>OsPDRH9N</i> product	49
3.6 Effects of <i>OsPDRH9N</i> expression on the other resistance-related genes	51
4 Discussion.....	53
4.1 Construction of RNAi expression vector in plant.....	53
4.2 The expression status of <i>OsPDRH9N</i>	54
4.3 Analysis of transgenic plants	55
4.4 Subcellular localization.....	56
5 Summarize and prospect	57
Reference.....	58
Acknowledgment	64

摘 要

水稻细菌性条斑病是由 *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola* 侵染引起的细菌性病害，简称细条病，现已成为威胁我国南方稻区水稻生产的重要病害。该病引起的产量损失通常为15-25%，严重时可达40-60%。因此，分离和克隆细条病相关抗性基因并进一步明确这些基因的抗病机制，对于有效控制水稻细条病的发生与发展、减少经济损失具有重要的理论和现实意义。

OsPDRH9N 基因是对水稻细菌性条斑病侵染应答的差异蛋白质组学研究中发现的一个拟抗病基因（R基因）。生物信息学分析表明该基因定位在水稻第八号染色体上，其cDNA全长为3386bp，开放阅读框长2748bp，编码915个氨基酸。该基因编码的蛋白具有R蛋白保守的NBS结构域。因此，对 *OsPDRH9N* 基因的研究有助于阐明其在水稻细菌性条斑病致病网络中的作用与地位，为了解水稻细菌性条斑病致病的分子机理提供参考。

为此，我们构建了该基因的植物过量表达载体pH7WG2-*OsPDRH9N*、RNA 干扰表达载体 pH7GWIWG2（II）-*OsPDRH9N* 以及 GFP 亚细胞定位载体 pMDC85-*OsPDRH9N*，并通过农杆菌介导法分别将这三个载体上含有目的片段的 T-DNA 整合到了水稻基因组中。对得到的再生水稻植株通过PCR检测后确认，目的基因已整合到水稻基因组中。通过半定量RT-PCR对转基因株系RNA转录水平的检测发现，在过量表达转基因植株中 *OsPDRH9N* 基因的转录水平明显高于野生型对照。在RNAi转基因植株有些植株检测不到 *OsPDRH9N* 基因的表达，说明在这些RNAi植株中 *OsPDRH9N* 基因的表达被抑制。对水稻 *OsPDRH9N* 与 GFP 融合基因的表达产物进行亚细胞定位分析发现，融合蛋白在转基因水稻根细胞的细胞质和细胞外周发出可见绿色荧光。

OsPDRH9N 基因表达模式显示，该基因在水稻各组织中均有低表达，但在两叶期幼苗的根和茎中表达量相对较高。*OsPDRH9N* 是一个编码病程相关蛋白的基因，与抗病有关，其表达明显受到 *OsPDRH9N* 基因表达的促进作用；*OsL-RLK1* 是一个植物类受体蛋白激酶基因，在接细条病病菌时其表达明显受到 *OsPDRH9N* 基因表达的抑制作用。

关键词：*OsPDRH9N*；抗病基因；水稻细菌性条斑病

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Rice bacterial leaf streak (BLS) caused by the pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xooc*) is one of the major rice diseases in South China. It leads to decreased rice production generally by 15-25%, even by 40-60% in prevailing years. So it is greatly significant to isolate and clone disease resistance genes against *Xooc* and further understand its resistance mechanism, which will play important roles in controlling BLS epidemics and reducing economic losses.

OsPDRH9N is a candidate disease resistance gene (R gene) that has been detected from rice genome based on the study of differentially expressed proteins from rice leaves in response to bacterial leaf streak (BLS). Bioinformatics analysis show that the length of *OsPDRH9N* was 3386bp including a 2748bp open reading frame encoding a 915 amino acids protein. *OsPDRH9N* encodes protein that contains conserved motif NBS of R gene products. So, study on *OsPDRH9N* will contribute to understand its role in defending BLS and elucidate the pathogenic molecular mechanism.

For this purpose, we constructed plant overexpression vector pH7WG2-*OsPDRH9N*, RNAi expression vector pH7GWIWG2 (II) -*OsPDRH9N* and plant subcellular localization vector pMDC85-*OsPDRH9N*. Then, the T-DNA of these three expression vectors were inserted into the genome of rice via *Agrobacterium*-mediated transformation system. Results indicated that these target fragments have been integrated into rice genome with PCR analysis. The mRNA transcription levels of *OsPDRH9N* in regenerated plant were detected by semi-quantitative RT-PCR, the results shows that the transcription levels of *OsPDRH9N* in overexpression transgenic rice were higher than WT. Furthermore, in some RNAi transgenic rices, expression of *OsPDRH9N* wasn't detected. It shows that expression of *OsPDRH9N* was down regulated. By the analysis of subcellular

localization information of the expressed protein, the fusion protein of *OsPDRH9N* and GFP was located in cytoplasm and cell membrane in the root of transgenic rice.

The gene expression patterns showed that *OsPDRH9N* was expressed throughout the rice tissues at a low level, except in the root and the shoot during two leaf stage it was expressed at a relatively higher level. *OspPIR2* is a pathogenesis-related protein gene and was up-regulated by overexpression of *OsPDRH9N*. *OsL-RLK1*, a receptor-like kinase gene, was down-regulated by *OsPDRH9N* overexpression.

Key words: *OsPDRH9N*, Disease resistance genes, Bacterial leaf streak (BLS)

缩略词

BLS(Bacterial Leaf Streak)	水稻细菌性条斑病
NBS(nucleotide binding site)	受体类蛋白激酶
LRR(Leucine-rich repeat)	富亮氨酸
RNAi(RNA interference)	RNA 干扰
LB	Luria-Bertani 培养基
2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid)	2,4-二氯苯氧乙酸
NAA (naphthalene acetic acid)	萘乙酸
6-BA (6-benzylaminopurine)	6-苄基氨基嘌呤
KT(Kinetin)	激动素
AS (3,5-dimethoxy-4-hydroxy acetophenone)	乙酰丁香酮
Hyg (hygromycin B)	潮霉素 B
Cef (Cefotaxime Sodium)	头孢霉素
Carb (Carbenicillin)	羧苄青霉素钠
CTAB (cetyltriethylammonium bromide)	十六烷基三甲基溴化铵
PCR (polymerase chain reaction)	聚合酶链式反应
RT-PCR (reverse transcriptase-PCR)	反转录聚合酶链式反应

1 前言

1. 1 植物抗病基因研究进展

1.1.1 植物抗病性

长期以来,植物病虫害一直是农业生产的主要限制因子,给农业生产带来极大的损失。据统计,我国每年因各种病虫害损失的粮食高达4000万吨,约占全国粮食总产量的8.8%,其它农作物如棉花损失24%,蔬菜和水果损失20-30%^[1]。另据联合国粮农组织(FAO)估计,全世界每年因病虫草害造成的损失约占粮食总产量的30%,其中因病害、虫害和草害损失各占10%、14%和11%。植物病虫害不仅会造成农作物的减产或经济上的损失,也可能带来重大的社会影响,如19世纪40年代,马铃薯晚疫病在爱尔兰的流行和为害举世震惊,仅800万人口的爱尔兰就有约100万人因饥饿而死亡,约150万人逃荒海外。1943年,孟加拉国因水稻胡麻斑病大流行导致水稻几乎绝收,200多万人死于饥荒。

植物的一生都受到病原物:真菌、细菌、病毒和线虫的侵染(以下通称为病原菌, *pathogens*)。植物在这些环境中的生存进化已获得了一系列防卫反应系统,包括其自身固有的和病原菌诱导的两种。前者主要是指植物本身的某些结构障碍和化学成分具有抗病功能,包括细胞壁的角质、蜡质、木质素、特殊的气孔结构、小分子抗病物质(如毒性脂肪酸、酚类化合物、类砒与类黄酮类植保素以及有关的过氧化物酶、多酚氧化酶与苯丙氨酸解氨酶等)、种子固有的抗真菌蛋白以及能与真菌几丁质结合的凝集素、破坏真菌细胞透性的蛋白质和核糖体失活蛋白等^[2]。后者属于植物的第二层防御体系,是指当病原菌突破植物固有的第一道防线时,寄主植物具有的抗病基因(*Resistance gene*),能够识别病原菌并激活植物的防御反应,表现出局部抗病反应(或过敏反应)和系统抗病反应。植物在受到非亲和病原感染后在侵染部位出现局部保护反应,称为过敏反应(*hypersensitive reaction, HR*),表现为侵染部位产生枯斑,细胞出现编程性死亡(*programmed cell death, PCD*)^[3],使病原菌不易获取养分,同时又诱导周围细胞合成抑制病

原菌生长的物质，从而限制了病原菌的增殖^[4]。系统抗病反应又称系统获得抗性（system acquired resistance, SAR），是指植物在过敏反应发生后会产生一类诱发整个植株防卫基因的表达的信号分子，从而诱导寄主整个系统获得对病原感染的广谱性抗性。其特点是不出现局部抗性那样的枯斑，却能抗多种病原物引起的病害^[5]。

1.1.2 植物抗病基因分类

自1992年Johal和Briggs利用转座子标签法首次从玉米中克隆到首个抗病基因——抗圆斑病基因*Hml*以来，在随后十几年中，研究人员相继从玉米、拟南芥、烟草、番茄、水稻、亚麻等8种植物中克隆了50多个抗病基因（R基因）（表1），这些抗病基因分别提供对细菌、真菌、线虫、病毒的抗性。它们编码的蛋白产物分别对不同的病原产生抗病。通过对已克隆的R基因及其编码的蛋白（R蛋白）分析比较，发现多数R基因具有较高序列一致性，来源不同的R蛋白存在一些保守的结构域^[6,7]，如核苷酸结合位点（nucleotide binding site, NBS），富含亮氨酸重复序列（leucine rich repeat, LRR），跨膜结构域（transmembrane domain, TM），亮氨酸拉链（leucine zipper, LZ），丝氨酸/苏氨酸蛋白质激酶（Ser/Thr protein kinase, STK），以及果蝇Toll蛋白和哺乳动物白细胞介素-1受体同源区域（Toll and interleukin-1 receptor homology region, TIR）等。这些抗病基因按其保守的结构域，可分为5类：NBS-LRR，STK，LRR-TM，LRR-TM-STK以及不属于以上四类的其它类型。

1. NBS-LRR类 在抗病基因中，数量最多的是NBS-LRR类抗病基因，其蛋白一般含有核苷酸结合位点（NBS）和亮氨酸的富集区（LRRs）^[8]。LRRs是多个长度为24个氨基酸的基序的系列重复，以一定间隔规则分布着亮氨酸或其他疏水残基，也可包括规则分布的脯氨酸和天冬氨酸。NBS结构域是该类抗病基因中最保守的部分，主要包含3个特征保守区，第一区域为磷酸结合环（P-loop）又称激酶1a（Kinase 1a），其共有序列为GXXXXGK[T/S]，用于结合ATP或GTP的磷酸；第二区域为激酶2a（Kinase 2a），其特点是4个疏水氨基酸残基后紧跟一个不变的带负电荷的天冬氨酸。在植物中，这一区域的两边还有高保守的氨基酸，共有序列为

K(R/K)xLLVLDDVW/D, 最后的氨基酸残基可用于判断某个R基因在含有NBS的同时, 是否还含有TIR结构, 当含D(天冬氨酸)时, 大多为TIR-NBS-LRR, 而含W(色氨酸)的, 大多为不含TIR结构的NBS-LRR类^[9,10]。第三区域为激酶3a (Kinase 3a), 与DNA的嘌呤或核糖结合有关, 通常含有一个精氨酸残基, 其保守区为SRaaaT(T/S)R(a为疏水氨基酸)。该类基因产物大部分都位于细胞质内。根据NBS前(N末端)的结构不同, 分为三个亚类^[11]: 1) LZ-NBS-LRR。该类基因N端为亮氨酸拉链(LZ)保守区^[12], 它是七氨基酸重复序列(保守单位为XXXYYXXL, Y代表1个疏水残基), 中间含有NBS的保守序列, C端为含不同重复数的LRR, 其中有来自拟南芥的*RPS2*, *RPM1*, *RPP8*和来自番茄的*Prf*, *Mi*等抗病基因^[13-14,11]。许多成员氨基端含7个氨基酸重复单元组成的CC结构域(coiled coil domain)^[30], LZ只是CC的特殊结构^[15]。2) TIR-NBS-LRR。该类在N末端含有一个TIR(Toll/interleukin-1 receptor, Toll蛋白及白细胞介素-1受体)同源结构域, 该结构对抗病基因的识别特异性也起到重要作用, 其中包含来自烟草的抗烟草花叶病毒的*N*基因^[16], 亚麻的*L6*^[17]、*M*基因^[18], 和拟南芥的*RPP1*^[19]、*RPP5*^[20]等抗病基因。3) NBS-LRR。该类抗病基因与以上介绍的两个亚类的结构不同主要是在N端既无LZ结构也无TIR结构, 但该类抗病基因同样具有NBS和LRR结构, 该类有来自番茄的*I2*和*Mi*^[21,22], 以及来自水稻的*Xa1*和*Pib*基因^[23,24]等。

2. STK类 该抗病基因编码的氨基酸产物主要是一个没有LRR结构域, 位于细胞质内的典型的丝氨酸-苏氨酸激酶(Ser-Thrkinase)。通过丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化来传递信号^[25]。番茄*Pto*基因属于此类抗病基因。*Pto*基因产物是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, N端有一潜在的十四烷酰化位点^[26], 介导对携有无毒基因avr*Pto*的细菌病原*P. syringae* pv. *tomato*的抗性。同时, *Pto*也和参与信号传导级联反应的其它蛋白相互作用。*Pto*是一个激酶家族成员, 但只有*Pto*证明是唯一具有抗病基因功能的基因。

3. LRR-TM类。该类抗病基因的编码产物N端为含有不同数目的定位于细胞外的LRR重复。中间为一个跨膜结构域, 而其C端是个短的定位于细胞内的区域。这类基因有来自番茄的*Cf-2*、*Cf-4*、*Cf-5*、*Cf-9*^[27-30]和来自甜菜的*Hsl^{pro21}*基因^[31]。

4. LRR-TM-STK类。该结构与动物细胞的跨膜受体相似。编码1个胞外LRR保守区，1个可能的跨膜受体和1个胞内的激酶保守区。目前已克隆的此类R基因的代表成员是水稻抗白叶枯病菌 (*Xanthomona oryzae* pv. *oryzae*) 的 *Xa21*^[32] 和 *Xa26* 基因^[33,34]。

5. 其它类型 这些类型包括不符合基因对基因关系的R基因，如玉米 *Hm1*、*Hm2*^[35] 和大麦 *Mlo*^[36]。玉米 *Hm1* 和 *Hm2* 编码依赖于NADPH的HC-毒素还原酶，可使毒素钝化从而使植株表现抗病。大麦 *Mlo* 基因编码的蛋白中含有至少6个跨膜结构域，不具有其它抗病基因的类似序列，但与水稻和拟南芥的某些基因具有同源性。*Mlo* 基因的隐性突变体表现出对大麦白粉病的广谱抗性。

表 1 已克隆的植物抗病基因

Table 1 The major classes of cloned plant disease resistance genes

宿 主	基 因	病 原 菌	蛋白质结构特征
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Pto</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	PK
	<i>Pr f</i>	<i>Pseudomonas</i> spv. <i>tomato</i>	CC-NBS-LRR
	<i>Cf-9</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>	LRR-TM
	<i>Cf-2</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>	LRR-TM
	<i>I2C</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	NBS-LRR
	<i>Cf-4</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>	LRR-TM
	<i>Cf-5</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>	LRR-TM
	<i>Mi</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	CC-NBS-LRR
	<i>I2</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	NBS-LRR
	<i>Hcr9-4E</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>	LRR-TM
	<i>Sw-5</i>	Tomato spotted wilt virus	CC-NBS-LRR
	<i>Ve</i>	<i>Verticillium albo-atrum</i>	CSLR
	<i>Hero</i>	<i>Globodera rostochiensis</i>	NBS-LRR
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>RPS2</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	CC-NBS-LRR
	<i>RPM1</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	CC-NBS-LRR
	<i>RPP5</i>	<i>Peronospora parasitica</i>	TIR-NBS-LRR

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库